大花地不容块根生物碱成分的研究

孙国锋，陈封政，田 冲，成 英，李书华*

（乐山师范学院 新能源材料与化学学院/乐山特色农产品药用成分研发工程中心，四川 乐山 614000）

摘要：为研究大花地不容块根的生物碱成分，该研究采用酸提碱沉法从大花地不容块根中提取出总生物碱，然后采用硅胶柱色谱法和制备液相色谱技术对大花地不容块根的总生物碱提取物进行分离纯化，利用波谱学手段对化合物进行结构鉴定。结果表明：（1）从总生物碱提取物中分离得到 11 个化合物，分别鉴定为青藤碱（**1**）、青风藤碱（**2**）、斯帝酚灵碱（**3**）、瑞枯灵（**4**）、异紫堇定（**5**）、紫堇单酚碱（**6**）、巴婆碱（**7**）、sukhodianine（**8**）、荷包牡丹碱（**9**）、7-氧代克班宁（**10**）和巴马汀（**11**）；（2）体外细胞毒性测试显示，大花地不容总生物碱和其主成分青藤碱对人类肺癌细胞 A549 的 IC_{50} 分别为 7.5×10^{-4} g·mL^{-1} 和 6.59×10^{-9} g·mL^{-1}。化合物 **2**、**3**、**4**、**7**、**8**、**9** 和 **10** 系首次从大花地不容中分离得到。大花地不容块根中含有吗啡烷、原阿朴啡、阿朴啡、苄基四氢异喹啉和原小檗碱 5 种类型的生物碱。

关键词：大花地不容，生物碱，化学成分，分离纯化，结构鉴定，细胞毒性

中图分类号：Q946　　　　**文献标识码：**A

Isolation and identification of the alkaloids from rhizomes of *Stephania macrantha*

SUN Guofeng, CHEN Fengzheng, TIAN Chong, CHENG Ying, LI Shuhua*

(*School of New Energy Materials and Chemistry*, *Leshan Engineering Research Center for Medicinal Components of Characteristic Agro-Products*, *Leshan Normal University*, Leshan 614000, Sichuan, China)

Abstract: To study the alkaloids in the rhizomes of *Stephania macrantha*. The total alkaloids of *S. macrantha* were extracted by acid extraction and alkali precipitation method. Eleven alkaloids have been isolated by silica gel column chromatography and preparative high performance liquid chromatography (HPLC). The compounds were elucidated on the basis of NMR and MS analysis.

基金项目：四川省科技厅计划项目（2020YJ0358）；药食同源植物资源开发四川省高校重点实验室项目资助（10Y202102）；乐山师范学院资助项目（2021SSDJS005） [Supported by Science and Technology Department of Sichuan Province (2020YJ0358); Key Laboratory of Medicinal and Edible Plants Resources Development of Sichuan Education Department (10Y202102); Scientific Research Fund of Leshan Normal University (2021SSDJS005)]。

第一作者：孙国锋（1975-），博士，教授，主要从事有机化学研究，（E-mail）47933759@qq.com。

***通信作者：**李书华，硕士，研究员，主要从事食品化学研究，（E-mail）714941656@qq.com。

The results were as follows: (1) Eleven components were designated as sinomenine (**1**), sinoactine (**2**), stepharine (**3**), reticuline (**4**), isocorydine (**5**), corydalmine (**6**), asimilobine (**7**), sukhodianine (**8**), dicentrine (**9**), 7-oxocrebanine (**10**) and palmatine (**11**). (2)The total alkaloids of *S. macrantha* and sinomenine had inhibitory activity on human lung cancer cells (A549), with IC_{50} values of 7.5×10^{-4} g·mL^{-1} and 6.59×10^{-9} g·mL^{-1} respectively. Compounds **2**, **3**, **4**, **7**, **8**, **9** and **10** were isolated for the first time from *S. macrantha*. The chemical constituents from *S. macrantha* belong to five types of alkaloids such as morphanes, proaporphines, aporphines, benzyltetrahydroi soquinolines and protoberberines.

Key words: *Stephania macrantha*, alkaloids, chemical constituents, isolation and purification, structure identification, cytotoxicity

大花地不容（*Stephania macrantha*）是 1988 年报道的一个新种（罗献瑞，1988），该种归属于千金藤属山乌龟亚属山乌龟组，主要分布于云南，由于其花形特殊，在云南漾濞县的部分家庭将大花地不容作为观赏植物栽培（谢道涛，2014）。《中国植物志》记载防己科千金藤属植物约 60 种，分布于亚洲和非洲的热带和亚热带地区，少数产于大洋洲，分布于中国的千金藤属植物有 39 个种，分别属于 3 个亚属（千金藤亚属、粉防己亚属和山乌龟亚属），其中山乌龟亚属植物具有块根，生物碱含量较高，活性强（朱兆仪等，1983）。山乌龟亚属植物中广西地不容、云南地不容、小叶地不容研究得比较充分，尤其对广西地不容的研究显得深入和全面，涉及到广西地不容的生物碱成分（闵知大和钟守明，1980；成桂仁等，1981；黄秋洁等，2018），内生真菌（卿朕等，2016；周秋艳等，2016；刘晓莹等，2017；汤夏安等，2019）和种子资源（覃艳，2006）等。大花地不容的基础研究非常薄弱，仅上世纪九十年代有一篇关于生物碱成分的研究报道（陈嫱等，1994）。为了进一步详细研究该植物块根的化学成分及活性，我们对大花地不容块根的生物碱成分及主要成分的生物活性进行了研究，共得到了 11 个化合物，分别为青藤碱（**1**）、青风藤碱（**2**）、斯帝酚灵碱（**3**）、瑞枯灵（**4**）、异紫堇定（**5**）、紫堇单酚碱（**6**）、巴婆碱（**7**）、sukhodianine（**8**）、荷包牡丹碱（**9**）、7-氧代克班宁（**10**）和巴马汀（**11**），化合物 **1**–**11** 的结构见图 1。其中 **2**、**3**、**4**、**7**、**8**、**9** 和 **10** 系首次从大花地不容中分离得到。

1 仪器与材料

旋转蒸发仪 RE212BW-B（日本雅玛拓）；冷却水循环装置 CF810C（日本雅玛拓）；隔膜真空泵 LVS302Z（美国威尔奇）；制备液相色谱 SACID 100 mm （成都格莱精密仪器有限公司）；Varian INOVA 400 核磁共振谱仪。

大花地不容块根，2019 年 3 月购自安国冷背药材有限公司，经乐山师范学院成英副教授鉴定为防己科千金藤属植物大花地不容（*Stephania macrantha*）的块根，样本保存于乐山师范学院乐山特色农产品药用成分研发工程中心（20190301）。

2 提取与分离

图1　化合物**1-11**的结构

Fig. 1　Structures of compounds **1-11**

2.1 总生物碱的提取

取大花地不容块根 3 kg，经 60 ℃烘干后粉碎，过 10 目筛，将大花地不容块根小颗粒倒入 100 L 提取罐中，然后加入 3.65×10^{-3} $g\cdot mL^{-1}$ 的盐酸溶液 30 L，搅拌 6 h，转速 20 $r\cdot min^{-1}$，

放出提取液，最后再向提取罐中加入 3.65×10^{-3} g·mL^{-1} 的盐酸溶液 20 L，搅拌 3 h，转速 20 r·min^{-1}，放出提取液。合并 2 次提取液，用氢氧化钠水溶液调节提取液的 pH 至 9 左右，然后用 30 L 二氯甲烷萃取碱性提取液 2 次，合并 2 次二氯甲烷萃取液，然后再次用 20 L 蒸馏水洗涤二氯甲烷萃取液，50 ℃减压浓缩二氯甲烷后得到大花地不容块根的总生物碱 95 g。

2.2 总生物碱的分离纯化

2.2.1　总生物碱的硅胶柱层析分离

称取 200 目层析硅胶 800 g，以二氯甲烷湿法装柱。称取总生物碱 80 g，拌样上样。以不同比例的二氯甲烷：甲醇（50:1→5:1）为洗脱液，收集洗脱液，经薄层层析点板检测后，分成了 8 个部分。

2.2.2　生物碱的制备液相分离纯化

将上述经过硅胶柱层析分段得到的 8 个部分的生物碱，通过制备液相色谱分离纯化。制备方法：将样品用酸水溶解后吸入制备柱，然后以乙腈（20%）−水（80%）梯度洗脱，逐渐增加乙腈的比例，直至乙腈比例 80%。检测波长：254 nm，制备柱：C_{18}，50 mm×450 mm，5 μm。

按照峰收集洗脱液，各洗脱液用氨水调至中性后浓缩除去乙腈，然后用氨水碱化后，再用二氯甲烷萃取。

按照上述方法，经过多次制备液相制备纯化后，按照出峰顺序依次得到 11 个化合物，分别为 **1**（3 100 mg）、**2**（850 mg）、**3**（81 mg）、**4**（296 mg）、**5**（126 mg）、**6**（109 mg）、**7**（225 mg）、**8**（76 mg）、**9**（168 mg）、**10**（527 mg）、**11**（237 mg）。

3 化合物结构鉴定

化合物 **1**　白色无定形粉末，碘化铋钾显橘红色，推断该化合物可能为生物碱。ESI-MS *m/z* 330 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 6.63 (1H, d, *J*=8 Hz, H-2), 6.54 (1H, d, *J*=8 Hz, H-1), 6.07 (1H, brs, HO-4), 5.47 (1H, s, H-8), 4.35 (1H, d, H-5e), 3.80 (3H, s, OCH_3-3), 3.49 (3H, s, OCH_3-7), 3.17 (1H, m, H-9), 2.43 (3H, s, NCH_3-17)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 194.1 (C-6), 152.3 (C-7), 145.0 (C-3), 144.7 (C-4), 130.4 (C-11), 122.6 (C-12), 118.2 (C-1), 115.1 (C-8), 108.9 (C-2), 56.7 (C-9), 56.1 (3-OCH_3), 54.8 (7-OCH_3), 49.2 (C-5), 47.1 (C-16), 45.9 (C-14), 42.8 (-NCH_3), 40.5 (C-13), 36.0 (C-15), 24.2 (C-10)。上述核磁数据与文献（曾立和尹文清，2010）报道的青藤碱（sinomenine）基本一致，鉴定该化合物为青藤碱。

化合物 **2**　白色无定形粉末，碘化铋钾显橘红色，推断该化合物可能为生物碱。ESI-MS

m/z 328 [M+H]$^{+}$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.55 (1H, s, H-5), 6.75 (1H, d, *J*=8 Hz, H-2), 6.66 (1H, d, *J*=8 Hz, H-1), 6.33 (1H, s, H-8), 3.89 (3H, s, OCH_3-3), 3.75 (3H, s, OCH_3-6), 3.69 (1H, d, *J*=4 Hz, H-9), 3.33 (1H, d, *J*=16 Hz, H-10b), 2.98 (1H, m, H-10a), 2.60 (1H, m, H-16b), 2.47 (1H, m, H-16a), 2.45 (3H, s, NCH_3), 2.37 (1H, m, H-15b), 1.75 (1H, m, H-15a)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 181.5 (C-7), 161.7 (C-14), 151.0 (C-6), 145.4 (C-3), 143.3 (C-4), 129.8 (C-11), 124.0 (C-12), 120.5 (C-5), 118.8 (C-1), 109.5 (C-2), 61.0 (C-9), 56.3 (3-OCH_3), 54.9 (6-OCH_3), 47.0 (C-16), 43.7 (C-13), 41.7 (-NCH_3), 37.8 (C-15), 32.6 (C-10)。上述核磁数据与文献（沈晓静等，2016）报道的青风藤碱（sinoactine）基本一致，鉴定该化合物为青风藤碱。

化合物 **3**　褐色无定形粉末，碘化铋钾显橘红色，推断该化合物可能为生物碱。ESI-MS *m/z* 298 [M+H]$^{+}$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.03 (1H, d, *J*=8 Hz, H-12), 6.89 (1H, d, *J*=8 Hz, H-8), 6.64 (1H, s, H-3), 6.41 (1H, d, *J*=8 Hz, H-9), 6.29 (1H, d, *J*=8 Hz, H-11), 4.29 (1H, m, H-6a), 3.81 (3H, s, OCH_3-1), 3.60 (3H, s, OCH_3-2), 3.45 (1H, m, H-5), 3.15 (1H, m, H-5), 2.77 (2H, m, H-4), 2.40 (1H, m, H-7), 2.30 (1H, m, H-7)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 186.2 (C-10), 153.5 (C-1), 150.0 (C-8, 12), 144.3 (C-2), 135.5 (C-7b), 132.5 (C-3b), 128.2 (C-9, 11), 127.4 (C-3a), 112.2 (C-3), 61.0 (2-OCH_3), 57.7 (C-6a), 56.3 (1-OCH_3), 51.2 (C-7a), 48.2 (C-5), 45.0 (C-4), 26.3 (C-7)。上述核磁数据与文献（龚运淮和丁立生，2006；张茂生，2009）报道的斯帝酚灵碱（stepharine）基本一致，鉴定该化合物为斯帝酚灵碱。

化合物 **4**　浅黄色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 330 [M+H]$^{+}$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 6.77 (1H, s, H-2′), 6.73 (1H, d, *J*=8 Hz, H-5′), 6.59 (1H, d, *J*=8 Hz, H-6′), 6.54 (1H, s, H-5), 6.37 (1H, s, H-8), 3.85 (6H, s, 6-OCH_3 和 4′-OCH_3), 3.71 (1H, m, H-1), 3.19 (1H, m, H-3a), 3.05 (1H, m, H-9a), 2.80 (3H, m, H-3b, H-9b, H-4a,), 2.60 (1H, m, H-4b), 2.40 (3H, s, NCH_3)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 145.3 (C-6), 145.2 (C-4′), 145.0 (C-7), 143.4 (C-3′), 133.0 (C-8a), 130.1 (C-1′), 125.0 (C-4a), 120.9 (C-6′), 115.6 (C-2′), 113.7 (C-5′), 110.6 (C-8), 110.4 (C-5), 64.5 (C-1), 55.9 (6-OCH_3), 55.8 (4′-OCH_3), 46.6 (C-3), 42.2 (-NCH_3), 40.9 (C-9), 24.8 (C-4)。以上核磁数据与文献（王恩军等，2008）报道的瑞枯灵（reticuline）基本一致，鉴定该化合物为瑞枯灵。

化合物 **5**　浅黄色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 342 [M+H]$^{+}$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.84 (1H, s, 11-OH), 6.86 (1H, d, *J*=8Hz, , H-8), 6.84 (1H, d, *J*=8Hz, , H-9), 6.70 (1H, s, H-3), 3.92 (3H, s, 10-OCH_3), 3.91 (3H, s, 2-OCH_3), 3.71 (3H, s, 1-OCH_3), 3.18 (1H, m, H-6a), 3.05 (2H, m, H-4), 2.88 (1H, d, *J*=16Hz, H-7a), 2.71 (1H, d, *J*=16Hz, H-7b), 2.54 (3H, s, NCH_3), 2.45 (2H, m, H-5)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 151.3 (C-2), 149.5 (C-10), 144.0 (C-11), 142.2 (C-1),

130.2 (C-3a), 130.0 (C-7a), 129.2 (C-11b), 126.0 (C-3b), 120.2 (C-11a), 119.0 (C-8), 111.1 (C-3), 110.0 (C-9), 62.9 (C-6a), 62.1 (1-OCH_3), 56.2 (10-OCH_3), 55.9 (2-OCH_3), 52.7 (C-5), 43.9 (-NCH_3), 35.9 (C-7), 29.3 (C-4)。以上核磁数据与文献（张茂生，2009）报道的异紫堇定（isocorydine）基本一致，鉴定该化合物为异紫堇定。

化合物 **6**　类白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 342 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 6.80 (1H, d, *J*=8 Hz, H-11), 6.76 (1H, d, *J*=8 Hz, H-12), 6.73 (1H, s, H-1), 6.62 (1H, s, H-1), 4.22 (1H, d, *J*=16 Hz, H-8a), 3.89 (3H, s, 2-OCH_3), 3.87 (3H, s, 3-OCH_3), 3.81 (3H, s, 9-OCH_3), 3.59 (1H, m, H-13a), 3.57 (1H, m, H-8b), 3.24 (1H, m, H-6a), 3.20 (1H, m, H-13), 3.16 (1H, m, H-5a), 2.83 (1H, m, H-13), 2.69 (1H, m, H-5b), 2.66 (1H, m, H-6b)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 147.5 (C-3), 147.4 (C-2), 146.6 (C-10), 143.3 (C-9), 129.6 (C-4b), 127.9 (C-12a), 127.2 (C-4a), 126.6 (C-8a), 124.9 (C-12), 114.4 (C-11), 111.3 (C-4), 108.5 (C-1), 60.6 (9-OCH_3), 59.5 (C-13a), 56.1 (2-OCH_3), 55.9 (3-OCH_3), 53.9 (C-8), 51.6 (C-6), 36.2 (C-13), 29.0 (C-5)。以上核磁数据与文献（杨德兰，2010）报道的紫堇单酚碱（corydalmine）基本一致，鉴定该化合物为紫堇单酚碱。

化合物 **7**　棕色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 268 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.29 (1H, d, *J*=8Hz, H-11), 7.21-7.33 (3H, m, H-8, 9, 10), 6.71 (1H, s, H-3), 3.80 (1H, dd, *J*=16, 4Hz, H-8), 3.59 (3H, s, 1-OCH_3), 3.35 (1H, m, H-6a), 2.99 (2H, m, H-5), 2.77 (2H, m, H-4), 2.70 (2H, m, H-7)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 148.2 (C-2), 142.8 (C-1), 136.2 (C-7a), 132.0 (C-11a), 130.0 (C-3b), 128.7 (C-8), 128.0 (C-9), 127.6 (C-10), 127.3 (C-3a), 127.2 (C-11), 125.3 (C-11b), 114.6 (C-3), 60.4 (1-OCH_3), 53.6 (C-6a), 43.3 (C-5), 37.4 (C-7), 29.0 (C-4)。以上核磁数据与文献（龚运淮和丁立生，2006；钟圣海等，2016）报道的巴婆碱（asimilobine）基本一致，鉴定该化合物为巴婆碱。

化合物 **8**　类白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 355 $[M]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.91 (1H, d, *J*=8 Hz, H-11), 7.08 (1H, d, *J*=8 Hz, H-10), 6.57 (1H, s, H-3), 6.08 (1H, s, -OCH_2-), 5.95 (1H, s, -OCH_2-), 5.43 (1H, brs, H-7), 3.92 (6H, s, 8-OCH_3 和 9-OCH_3), 3.21 (1H, m, H-6a), 3.16 (2H, m, H-5), 2.71 (1H, m, H-4), 2.70 (3H, s, NCH_3)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 153.3 (C-8), 148.4 (C-9), 147.6 (C-2), 143.5 (C-1), 130.8 (C-7a), 129.4 (C-3a), 124.7 (C-10), 124.6 (C-3b), 122.7 (C-11a), 116.7 (C-11b), 113.6 (C-11), 107.8 (C-3), 101.9 (-OCH_2-),67.7 (C-7), 61.8 (8-OCH_3), 60.3 (9-OCH_3), 56.1 (C-6a), 54.4 (C-5), 43.3 (-NCH_3), 29.3 (C-4)。以上核磁数据与文献（石晓丽，2013）报道的 sukhodianine 基本一致，鉴定该化合物为 sukhodianine。

化合物 **9** 类白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 340 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.67 (1H, s, H-11), 6.78 (1H, s, H-8), 6.52 (1H, s, H-3), 6.08 (1H, s, $-OCH_2-$), 5.93(1H, s, $-OCH_2-$), 3.92 (6H, s, 9-OCH_3 和 10-OCH_3), 3.14 (1H, m, H-6a), 3.07 (2H, m, H-5), 2.65 (2H, m, H-4), 2.61 (1H, m,H-7), 2.60 (3H, s, NCH_3), 2.52 (1H, m, H-7)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 148.2 (C-10), 147.7 (C-9), 146.6 (C-2), 141.8 (C-1), 128.4 (C-7a), 126.7 (C-3a), 126.4 (C-3b), 123.6 (C-11a), 116.6 (C-11b), 111.3 (C-11), 110.5 (C-8), 106.8 (C-3), 100.6 ($-OCH_2-$),62.4 (C-6a), 56.1 (9-OCH_3), 55.9 (10-OCH_3), 53.6 (C-5), 43.9 ($-NCH_3$), 34.2 (C-7), 29.2 (C-4)。以上核磁数据与文献（彭扶云，2014）报道的荷包牡丹碱（dicentrine）基本一致，鉴定该化合物为荷包牡丹碱。

化合物 **10** 类白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 335 $[M]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.78 (1H, d, *J*=4 Hz, H-5), 8.27 (1H, d, *J*=8 Hz, H-11), 7.63 (1H, d, *J*=4 Hz, H-4), 7.14 (1H, d, *J*=8 Hz, H-10), 7.01 (1H, s, H-3), 6.31 (2H, s, $-OCH_2-$), 4.01 (3H, s, 8-OCH_3), 3.95 (3H, s, 9-OCH_3)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 181.7 (C-7), 153.6 (C-1), 151.7 (C-2), 151.2 (C-6a), 146.4 (C-8), 146.2 (C-9), 144.6 (C-5), 135.3 (C-7a), 126.1 (C-3a), 125.6 (C-11a), 123.8 (C-11), 123.5 (C-10), 120.0 (C-11b), 117.0 (C-4), 108.4 (C-11b), 102.2 (C-3), 102.0 ($-OCH_2-$), 62.5 (8-OCH_3), 56.2 (9-OCH_3)。以上核磁数据与文献（彭扶云，2014）报道的 7-氧代克班宁（7-oxocrebanine）基本一致，鉴定该化合物为 7-氧代克班宁。

化合物 **11** 浅黄色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 353 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 9.79 (1H, s, H-8), 8.82 (1H, s, H-13), 8.14 (1H, d, *J*=8Hz, H-11), 8.03 (1H, d, *J*=8 Hz, H-12), 7.68 (1H, s, H-1), 7.07 (1H, s, H-4), 4.96 (2H, m, H-6), 4.23 (3H, s, 10-OCH_3), 4.13 (3H, s, 9-OCH_3), 4.01 (3H, s, 2-OCH_3), 3.96 (3H, s, 3-OCH_3), 3.31 (2H, m, H-5)。^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 153.6 (C-9), 151.6 (C-3), 150.6 (C-2), 146.1 (C-8), 145.5 (C-10), 139.5 (C-13a), 135.0 (C-12a), 130.0 (C-4a), 127.8 (C-12), 124.1 (C-11), 123.0 (C-8a), 121.0 (C-4b), 111.9 (C-4), 109.6 (C-1), 62.2 (9-OCH_3), 57.3 (3-OCH_3), 57.0 (C-6), 56.7 (2-OCH_3), 56.4 (10-OCH_3), 27.2 (C-5)。以上核磁数据与文献（王恩军等，2008）报道的巴马汀（palmatine）基本一致，鉴定该化合物为巴马汀。

4 活性测试

对大花地不容块根的总生物碱和主要成分青藤碱进行了细胞毒活性测试。参照文献采用 CCK-8 测定法（李书华等，2021）。大花地不容块根的总生物碱对 A549 细胞的的 IC_{50} 为 7.5×10^{-4} g·mL^{-1}，青藤碱对 A549 细胞的 IC_{50} 为 6.59×10^{-9} g·mL^{-1}，上述结果表明大花地不容

块根总生物碱和青藤碱对 A549 肺癌细胞均具有一定的细胞毒活性。

5 讨论与结论

山乌龟亚属植物中的云南地不容的主要生物碱成分为青风藤碱，其次为克班宁，分别属于吗啡烷型和阿朴啡型生物碱（彭扶云，2014）；广西地不容的主要生物碱成分为 L-四氢巴马汀碱，属于原小檗碱型生物碱（闵知大和钟守明，1980）；小叶地不容的主要生物碱成分为青风藤碱（左爱学等，2013）和 L-四氢巴马汀碱（何嘉泳等，2017）。本研究的大花地不容的主要生物碱成分为青藤碱，属于吗啡烷型生物碱。从植物化学分类学上看，分布于中国的千金藤属山乌龟亚属山乌龟组的几种植物的主要生物碱均有差异，分别属于吗啡烷型、阿朴啡型和原小檗碱型生物碱，这符合杨鹤鸣和陈嫾（1994）的研究结果。

本文对大花地不容块根的生物碱成分进行了详细的研究，鉴定了 11 个生物碱，均属于异喹啉类生物碱，其中化合物 **1** 是该植物块根的主要生物碱类成分，化合物 **1** 和 **2** 属于吗啡烷型生物碱，化合物 **3** 属于原阿朴啡型生物碱，化合物 **4** 属于苄基四氢异喹啉类生物碱，化合物 **5**、**7**、**8**、**9** 和 **10** 属于阿朴啡型生物碱，化合物 **6** 和 **11** 属于原小檗碱型生物碱。化合物 **2**、**3**、**4**、**7**、**8**、**9** 和 **10** 系首次从大花地不容中分离得到。此外对大花地不容块根的总生物碱和主要成分青藤碱进行了体外细胞测试，结果显示总生物碱和青藤碱对 A549 肺癌细胞均具有一定的细胞毒活性。

参考文献:

CHEN Y, YUAN TS, XU YM, et al., 1994. Studies on the alkaloids of *Stephania macrantha* H. S. Lo et M. Yang [J]. Acta Bot Sin, 36(6): 486-488. [陈嫾，袁天烁，徐亚明，等，1994. 大花地不容中的生物碱[J]. 植物学报，36（6）：486-488.]

CHENG GR, WANG GQ, WEN YX, 1981. Studies on non-phenolic alkaloids in Diburong (*Stephania kwangsiensis*) [J]. Acta Pharm Sin, 16(2): 49-50. [成桂仁，王桂青，文永新，1981. 广西地不容生物碱的研究非酚性碱部分[J]. 药学通报，16（2）：49-50.]

DENG YC, XU HH, 2005. Studies on insecticidal activities and active ingredients of *Stephania kwangsiensis* Lo.[J]. Sci Agric Sin, 38(3): 523-527. [邓业成，徐汉虹，2005. 广西地不容的杀虫活性及有效成分研究[J]. 中国农业科学，38（3）：523-527.]

GONG YH, DING LS, 2006. ^{13}C-NMR analysis of natural products [K]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press. [龚运淮，丁立生，2006. 天然产物核磁共振分析-碳谱分析[K]. 昆明：云南科技出版社.]

HE JY, DOU XT, FANG Y, et al., 2017. Chemical constituents from the tuberous roots of *Stephania succifera* [J]. J Chin Med Mat, 40(6): 1335-1338. [何嘉泳，窦孝天，方媛，等，2017. 小叶地不容块根的化学成分研究[J].中药材，40（6）：1335-1338.]

HUANG QJ, WANG J, YE Y, et al., 2018. Determination of alkaloids in Diburong (*Stephania epigaea* Lo) by HPLC [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 24(19): 81-84. [黄秋洁，王捷，叶勇，等，2018. 广西地不容中生物碱类成分的含量测定[J]. 中医药导报，24（19）：81-84.]

LI SH, CHEN FZ, TIAN C, et al., 2021. A new monoterpenoid from *Gynura japonica* (Thunb.) Juel [J]. Chin J Med Chem, 31(12): 994-1000. [李书华，陈封政，田冲，等，2021. 菊三七中的一个新单萜酸化合物[J]. 中国药物化学杂志，31（12）：994-1000.]
LIU XY, SUN WB, CHEN JP, et al., 2017. Inhibitory activity of metabolites of endophytic fungi DBR-12 and DBR-23 from S*tephania kwangsiensis* Lo. [J]. J Henan Agric Sci，46(3): 75-80. [刘晓莹，孙文斌，陈洁萍，等，2017. 广西地不容内生真菌 DBR-12 和 DBR-23 代谢产物的抑菌活性[J]. 河南农业科学，46（3）：75-80.]
LUO RF, 1988. Four new species and one new variety of the genus *Stephania* (Menispermaceae) [J]. Guihaia, 8(4): 309-314. [罗献瑞，1988. 千金藤属四新种和一新变种[J]. 广西植物，8（4）：309-314.]
MIN ZD, ZHONG SM, 1980. Studies on the alkaloids of *Stephania Kwangsiensis* H. S. LO [J] . Acta Pharm Sin, 15(9): 532-537. [闵知大，钟守明，1980. 广西地不容生物碱的研究[J]. 药学学报，15（9）：532-537.]
PENG FY, 2014. Chemical constituents from *Stephania yunnannensis* [D]. Kunming: Yunnan University of Chinese Medicine. [彭扶云，2014. 云南地不容的化学成分研究[D]. 昆明：云南中医药大学.]
QIN Y, 2006. Genetic diversity of Stephania kwangsiensis Lo. Germplasm resources by ISSR and RAPD Markers [J]. Guilin: Guangxi Normal University. [覃艳，2006. 广西地不容种质资源遗传多样性的 ISSR 和 RAPD 的分析[D]. 桂林：广西师范大学.]
QING Z, ZHOU YQ, SUN WB, et al., 2016. Antimicrobial activity of endophytic fungus *Myrothecium verrucaria* DBR-11 from *Stephania kwangsiensis* [J]. J Henan Agric Sci, 45(5): 77-81. [卿朕，周秋艳，孙文斌，等，2016. 广西地不容内生真菌疣孢漆斑菌 DBR-11 的抑菌活性[J]. 河南农业科学，45（5）：77-81.]
SHEN XJ, DONG JW, YANG RF, et al., 2016. Study on alkaloids of *Stephania epigaea* [J]. Chem Res Appl, 28(12):1730-1734. [沈晓静，董建伟，杨瑞峰，等，2016. 地不容生物碱成分研究[J]. 化学研究与应用，28（12）：1730-1734.]
SHI XL, 2013. Studies on the chemical constituents of *Stephania viridiflavens* and *Bergenia purpurascens* [D]. Kunming: Yunnan University of Chinese Medicine. [石晓丽，2013. 蛇莲和岩白菜的化学成分研究[D]. 昆明：云南中医药大学.]
TANG XA, LIU CL, DENG YC, et al., 2019. Optimization of fermentation conditions for the production of citrinin from endophytic fungus DBR-9 of *Stephania Kwangsiensis* [J]. J Henan Agric Sci, 48(7): 81-87. [汤夏安，刘彩莲，邓业成，等，2019. 广西地不容内生真菌 DBR-9 产橘霉素的发酵条件优化[J]. 河南农业科学，48（7）：81-87.]
WANG EJ, MA YB, ZHANG XM, et al., 2008. Five alkaloids from vine stems of *Diploclisia affinis* [J]. Chin J Chin Mat Med, 33(21): 2503-2505. [王恩军，马云保，张雪梅，等，2008. 秤钩风中的生物碱成分[J]. 中国中药杂志，33（21）：2503-2505.]
XIE DT, 2014. A taxononic study of the genus *Stephania* Lour. from China [D]. Shanghai: Fudan University. [谢道涛，2014. 中国千金藤属植物分类学研究[D]. 上海：复旦大学.]
YANG DL, 2010. Study on the bioactive chemical constituents from the tubers of *Stephania succifera* [D]. Haikou: Hainan University. [杨德兰，2010. 小叶地不容块根中具有生理活性的生物碱成分研究[D]. 海口：海南大学.]
YANG HM, CHEN Y, 1994. Chemosystematic notes of genus *Stephanian* (Menispermaceae) in China [J]. Acta Bot Sin, 36 (supplement): 14-23. [杨鹤鸣，陈嫦，1994. 中国植物千金藤属植物化学成分的概况[J]. 植物学报，36（增刊）：14-23.]
ZENG L, YIN WQ, 2010. Study on chemical constituents of *Mappianthus iodoies* [J]. Pharm Care

Res, 10(6): 418-421. [曾立，尹文清，2010. 定心藤中化学成分的研究[J]. 药学服务与研究，10（6）：418-421.]

ZHANG MS, 2009. Extract and separation, stucture modification and activity evaluation of the alkaloids of *Stehania viridiflavens* H. S. Lo et M. Yang [D]. Guiyang: Guizhou University. [张茂生，2009. 黄叶地不容生物碱成分的提取分离、结构修饰及活性评价[D]. 贵阳：贵州大学.]

ZHONG SH, FU YH, ZHOU XM, et al., 2016. Studies on alkaloids of *Stephania epigaea* [J]. Chin J Chin Mat Med, 41(15): 2838-2842. [钟圣海，付艳辉，周学明，等，2016. 馥木枝叶中生物碱类化学成分研究[J]. 中国中药杂志，41（15）：2838-2842.]

ZHOU YQ, QING Z, LUO HY, et al., 2016. Study on the inhibitory activity of two endophytic fungi of *Stephania kwangsiensis* Lo. [J]. Guangdong Agric Sci, 43(4): 111-116. [周秋艳，卿朕，骆海玉，等，2016. 两株广西地不容内生真菌的抑菌活性研究[J]. 广东农业科学，43（4）：111-116.]

ZHU ZY, FENG YX, HE LY, et al., 1983. Utilization of medicinal plant resources of the genus *Stephania* of the family Menispermaceae in China [J]. Acta Pharm Sin, 18(6): 460-467. [朱兆仪，冯毓秀，何丽一，等，1983. 中国防己科千金藤属药用植物资源利用研究[J].药学学报，18（6）：460-467.]

ZUO AX, ZHANG QL, LI L, et al., 2013. Studies on alkaloids of *Stephania micrantha* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 19(6): 134-137. [左爱学，张秋玲，李莉，等，2013.小花地不容的生物碱成分[J].中国实验方剂学杂志，19（6）：134-137.]